

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-062420

(43)Date of publication of application : 06.03.1998

(51)Int.Cl. G01N 33/543  
G01N 33/53

(21)Application number : 09-148309

(71)Applicant : BOEHRINGER MANNHEIM GMBH  
SECURETEC GMBH

(22)Date of filing : 05.06.1997

(72)Inventor : DROSTE HOLGER DIPL CHEM DR  
LINKE SANDRA  
ABERL FRANZ DIPL ING DR  
BONENBERGER JOHANNES DIPL BIOL  
SACHS HANS DIPL CHEM DR

(30)Priority

Priority number : 96 19622503 Priority date : 05.06.1996 Priority country : DE

## (54) METHOD FOR DETECTING ANALYTE ON SURFACE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for detecting contamination surface by analytes especially by a minute amount of drug in a simple way without the use of any technical assistance.

SOLUTION: In this method, the detection of analytes in a body fluid with the use of a test kit which consists of the followings a) to c), and here a body fluid taken from one region of a body is collected by a sample collecting element and tested. a) a test piece formed of a flat material in which zones are in contact with each other for a fluid or which is chromatographically active with active actions of a plurality of capillaries. The zones are an eluent-applied zone at one end of the piece and a target zone at the other end, a capture zone between the eluent-applied zone and target zone, and a bind zone between the eluent-applied zone and capture zone. b) a sample collecting element isolated from the surface of the test piece. c) a device capable of bringing the sample collecting element into contact with the surface of the test piece between the eluent-applied zone and bind zone or at the bind zone.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 21.06.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 24.04.2002

[Kind of final disposal of application other than the  
examiner's decision of rejection or application  
converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of  
rejection][Date of requesting appeal against examiner's decision  
of rejection]

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## \* NOTICES \*

JPO and NCIPJ are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

## CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] Said approach which it is the approach of detecting the analyte in body fluid using the test kit which comes to contain the following, and the body fluid taken from one field of the body is extracted by the sample extraction element, and is characterized by being inspected after that.

a) This test piece:— that is the test piece which consists of an even material [ activity / in chromatography ] in 1 or two or more capillary tube activity which are carrying out fluid contact (fluid contact) mutually, and contains the following It is a target zone to an eluate application zone and an other end in one edge.;

— The capture reagent specifically combinable with the analyte, a specific analyte joint partner, or a labeling joint partner is being fixed. Capture zone; and — which are located between an eluate application zone and a target zone Analyte, Are specifically combinable with a specific analyte joint partner or a capture reagent. It is the joint zone located between the eluate application zones and capture zones containing a movable labeling joint partner. This labeling joint partner's association generates a detectable signal in a capture zone or a target zone here. ; which directs existence of the analyte — included this test piece: — the equipment which makes it possible to contact b test piece front face, sample extraction element; from which are separated, and c sample extraction element on the front face of a test piece in the joint zone between an eluate application zone and a joint zone.

[Claim 2] The approach according to claim 1 which a sample extraction element is contacted on the front face of a test piece, and this passes through a sample extraction element contact part with the application of an eluate in an eluate application zone, it moves in the direction of a target zone, and the analyte is incorporated by the eluate (taken up), and is characterized by measuring existence of the analyte in a target zone based on an immunological ligation reaction.

[Claim 3] The approach according to claim 1 the analyte which should be detected is an illegal drug or its metabolite.

[Claim 4] An approach given in either of claims 1–3 whose one field of the body is the skin or membrane in the first half.

[Claim 5] The approach according to claim 1 to 4 body fluid is body secrete.

[Claim 6] The approach according to claim 5 body secrete is sweat or saliva.

[Claim 7] The approach according to claim 1 which the material of a sample extraction element has combined with contact pressure equipment (contact pressure device) strongly.

[Claim 8] Said use by which it is use for measurement of the analyte in the body fluid of the test kit which comes to contain the following, and body fluid is extracted from one field of the body.

a) It is the test piece which consists of a test piece [ activity / in chromatography ] in 1 or two or more capillary tube activity which have the material fabricated to Taira and others, and which are carrying out fluid contact mutually, and is following thing:— It is a target zone to an eluate application zone and an other end in one edge.;

— The capture reagent specifically combinable with the analyte, a specific analyte joint partner, or a labeling joint partner is being fixed. Capture zone; and — which are located between an eluate application zone and a target zone Are movable. And contain the labeling joint partner who can combine with the analyte, a specific analyte joint partner, or a capture reagent specifically. It is the joint zone located between an eluate application zone and a capture zone. This labeling joint partner's association generates a detectable signal in a capture zone or a target zone here. ; which directs existence of the analyte — included this test piece: — the equipment which makes it possible to contact b test piece front face, sample extraction element; from which are separated, and c sample extraction element on the front face of a test piece in the joint zone between an eluate application zone and a joint zone.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

[Translation done.]

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## \* NOTICES \*

JPO and NCIPJ are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

DETAILED DESCRIPTION

---

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] This invention relates to the detection approach of the analyte on a front face which removes the analyte from a front face using a sample extraction element, and is made to carry out elution of the analyte from a sample extraction element next, and detects the analyte in an eluate using the immunological detection approach.

[0002]

[Description of the Prior Art] In criminology, detection of the analyte on solid-state front faces (for example, furniture, a traveling bag, etc.) is increasing importance with detection of the analyte in sample liquid, for example, blood, urine, saliva, etc. In especially narcotics criminal investigation, it is desirable for drug contamination of surface \*\*\*\* small quantity to be detectable by the simple means and the quick approach. There are few amounts of the matter polluted to extent which can detect a specific front face, and they end, so that the susceptibility of the detection approach becomes high.

[0003] In order to inspect the front face where arbitration was given about the analyte, especially a drug, the detection technique which versatility specialized is known. By these approaches, after carrying out elution from what was used for wiping a front face first, and extracting and wiping the analyte, the analyte is measured immunologically. Westinghouse (Baltimore, USA) "Illicit Substance Detector" (Security Management, Vol.37/8, and 12-15 a page and 1993) When it uses, a drug is measured using the approach integrated by the disposable card which wipes the front face which should be inspected using the plastics (burled) front face which removed \*\*\*\*, and has three kinds of reagent solutions (DE-A -4341862). A test result is evaluated using an optical scan instrument. The immunological principle of detection is based on inhibition of the latex agglutination assay by the drug which should be measured. It is supposed that it is a minimum limit of detection 1 microgram. The fact of making a detection reaction start by pushing three liquid reservoirs mechanically in addition to this very high analysis limit of detection is disadvantageous. Furthermore, only by evaluation of a test result borrowing the assistance of an optical scan instrument, it is possible, and it cannot be evaluated only with the naked eye.

[0004] Roche Diagnostics is manufacturing the cocaine trial kit in the urine sample based on the same immunoassay principle with difficult handling. Susceptibility is about 0.2. It is mug/ml.

[0005] "Accupress-Kit" of Thermetics (Woburn, USA) (Security Management, Vol.37/8, and 12-15 a page and 1993) It consists of three containers containing the reagent carrier and reagent solution which were covered specially. In this trial, the front face which should be inspected is wiped with the plug of cotton wool yarn, and the buffer solution washes this plug. In addition to the limit of detection with comparatively low susceptibility more than 1microg, the handling of three different reagent solutions is inconvenient, and contains the basis to which an error happens.

[0006] In EP-A-0 699 906, the analyte is wiped from a front face, and the detectable test kit is described. These front faces are polluted by the analyte during handling.

[0007]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] The purpose of this invention is offering the approach of detecting the contamination by the surface analyte which can be carried out without use of technical assistance by the simple approach, especially contamination by the drug of a minute amount. Especially the limit of detection of the analyte is absolute magnitude (absolute terms). 1 mug It must be intentionally less. It must be under 100 ng preferably.

[0008]

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

[Means for Solving the Problem] The above-mentioned technical problem is solved by the approach characterized in an attached claim.

[0009] It became clear that a test kit given in a surprising thing EP-A-0 699 906 was employable as the upper result also for inspection of many fields of the body which was not polluted by direct contact to the matter which should be measured. That there is relation most are fields which support them, such as many fields of the body which secretes liquids, such as sweat, saliva, tear fluid, and urine, or opening, regio-oralis membrane, a tongue, an axilla, an eye, and a reproductive organ field.

[0010] It is the approach of detecting the analyte in body fluid using the test kit which comes to contain the following, and the body fluid taken from one field of the body is extracted by the sample extraction element, and this invention is said approach characterized by being inspected after that.

a) It is the test piece which consists of the front face's even material mutually in activity in chromatography with 1 or two or more capillary tube activity which are carrying out fluid contact, and is following thing:- It is a target zone to an eluate application zone and an other end in one edge.;

- The capture reagent specifically combinable with the analyte, a specific analyte joint partner, or a labeling joint partner is being fixed. Capture zone; and - which are located between an eluate application zone and a target zone Analyte, Are specifically combinable with a specific analyte joint partner or a capture reagent. It is the joint zone located between the eluate application zone containing a movable labeling joint partner, and a capture zone. This labeling joint partner's association generates a detectable signal in a capture zone or a target zone here. ; which directs existence of the analyte -- included this test piece: -- the equipment which has the function to contact b test piece front face, sample extraction element; from which are separated, and c sample extraction element on the front face of a test piece in the joint zone between an eluate application zone and a joint zone.

[0011] The analyte from the body front face using the sample extraction element which wiped off and was assembled with the material of business wipes off this approach, it includes detection of the analyte in the eluate which made the means the elution and the immunological detection reaction from a sample extraction element of the analyte, and has the following descriptions. Namely, the front face of the test objective which supports a analyte is wiped with a sample extraction element. b) A test piece [ activity / in chromatography ] is made to contact in the capillary tube activity which has the sample extraction element which has an even front face at the end of one side, and has a target zone in an eluate application zone and an other end. A contact part is among both the above-mentioned zones, and c eluate is applied to an eluate application zone. An eluate moves in the direction of a target zone from the contact part of a sample extraction element by capillary action, and the analyte on a sample extraction element is incorporated by the eluate by that cause, and the analyte of a target zone is measured by d immunological ligation reaction.

[0012] Furthermore, the approach of this invention includes the extract (it is from opening preferably) of the sample matter by contacting a sample extraction element closely [ the field where the body is suitable ], and powerfully. a sample extraction element -- beginning people (proband) -- for example, you may be the matter of the sponge filled up with sample liquid, especially saliva by biting.

[0013] the identitas by which the test piece of the approach of this invention has been preferably arranged from the material of one split gestalt [ activity / in chromatography ] at juxtaposition -- or the capillary tube made from a different material -- it can assemble from some front faces on a substratum which mainly consist of an activity front face. The front face of some of above is carrying out fluid contact mutually so that one liquid transportation front face where a liquid flows from an eluate application zone to a target zone by capillary action may be formed.

[0014] The textiles from a cellulose and its derivative, fiberglass, fleece (fleece) and composition, or a natural material etc. are liquid absorptivity altogether, and a suitable chromatography-material is porosity or capillary tube activity.

[0015] In the approach of this invention, the various immunological test procedure which can detect the analyte by 1 or 2 or more immunological ligation reactions is employable. In the desirable embodiment ( drawing 1 ) of this invention, the chromatography test piece which can fit the purpose of this invention and can be located on the carrier foil (5) includes the capture zone (3) between the eluate application zone (1) and the target zone (4). Next, this capture zone contains the capture reagent of a fixed gestalt, and can combine it with the analyte, an analyte specific binding partner, or a labeling joint partner specifically. In front of a capture zone, a test piece has preferably the joint zone (2) which contains specifically the movable labeling joint partner who can join together in the analyte, a capture reagent, or the specific binding partner and capture zone of the analyte.

[0016] The vocabulary "the specific binding partner of the analyte" says the analyte joint partner who has a

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

movable binding site for a capture reagent. the case where such a joint partner is used for immunoassay -- this -- before a joint zone or inside -- or you can make it preferably located between a joint zone and a capture zone Furthermore, the high material of the one-layer liquid absorptivity which absorbs the liquid which has moved through various zones behind a target zone can be arranged to juxtaposition.

[0017] According to the class of immunoassay applied in the approach of this invention, a joint partner who is different in various zones can be stationed. In sandwiches immunoassay, the labeling analyte joint partner who is not fixed is stationed in a joint zone. These form the analyte and complex, the analyte joint partner to whom the indicator of the 2nd which complex is combined with a capture reagent by association with that analyte, or has a specific binding part for capture is not carried out and who can move freely forms the analyte and sandwiches complex first, and this complex is combined with the help of a joint partner's specific binding part in a capture zone. Between the above, the indicator of the complex in a capture zone is measured preferably. In this case, the capture zone and the target zone are the same.

[0018] In a contention trial, a labeling analyte analog is arranged preferably in a joint zone. This fights for the binding site of a capture reagent in a capture zone under existence of the analyte, or (a capture reagent is an analyte joint partner in this case) fights for that binding site under existence of the further movable analyte joint partner. Next, a labeling analyte analog and a movable joint partner's complex are combined by the specific binding part (for example, biotin) in a capture zone. In this case, a capture reagent is an analyte joint partner's movable joint partner, for example, streptoavidin. Preferably, in this approach, an indicator does not happen but is rather started in the form of an un-compounding-ized analyte analog as criteria of the existence of the analyte in a target zone in a capture zone.

[0019] Preferably, the approach of this invention is enforced according to an IEMA analog trial principle [it is also called an immunity enzyme measurement legal analog trial principle (immunoenzymometric analogue test principle)]. The implementation of an IEMA trial using a test piece is EP-A-0 407 904, EP-A-0 353 570, or DE OS 4024919. It is described.

[0020] The labeling joint partner of the analyte exists in a joint zone superfluously. The joint partner who has not combined with the analyte is fixed by the solid phase joint analyte analog in a capture zone after chromatography-migration. On the other hand, the complex of the analyte and a labeling joint partner is further analyzed by the chromatography in a target zone. The indicator which went to the target zone can be measured as a degree of existence of the analyte or concentration.

[0021] The suitable analyte in this invention is the matter detectable on all immunology targets especially an antigen, and hapten. Especially this invention is suitable for detection of a drug, for example, cocaine, morphine, heroin, etc. At this point, on the front face which should be wiped, the analyte is the shape of particle as a molecule, or a particle is adsorbed and it may exist.

[0022] The suitable indicators which can be considered are the conventional indicators, such as enzyme labeling, fluorescent labeling, and a coloring matter indicator. A metal indicator has a desirable especially desirable direct indicator, and a golden indicator is the most desirable. This has the advantage that a test result can read with a direct naked eye.

[0023] Especially the suitable joint partners of the analyte are an antibody and an antibody fragment.

[0024] When using a movable non-labeling analyte joint partner besides a capture reagent, this has a binding site for a capture reagent. It thinks of all the specific binding partners of a joint pair (binding pair) to this binding site. for example, lectin and an antibody -- it is a biotin (this combines with streptoavidin) preferably. Labeling in a capture zone or a target zone may take place reflected light measurement-wise, for example or in visible by the conventional detection approach. When especially a metal indicator (for example, golden indicator) is adopted, a measurement result can be read by the eye by the easy approach.

[0025] Using the sample extraction element which wipes the front face which should be examined, the approach of this invention applies a desirable little pressure, and is enforced. A sample extraction element is wiped off and serves as an element here. On the other hand, a sample extraction element can be the gestalt of the sponge which is full of sample liquid automatically while biting by beginning people's (proband) inner mouth. The body field which should be inspected contains the indifferent water. This is advantageous when repeating a sample extraction procedure several times. A sample extraction element (13) is preferably fixed on a base material (11) for better handling ( drawing 3 ). It wipes off and, especially as for the good result which is the engine performance, in the case of resistance, a sample extraction element is attained by mechanical stress. The advantageous thing was proved especially when the assembly material of a sample extraction element was welded to the base material (11) in supersonic wave.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

[0026] The materials which build a sample extraction element may be materials, such as the plastics and textiles which can adhere, are condensed by wiping and deal in the analyte, especially a drug, and fleece. On the other hand, when a liquid is contacted, it must be able to be easily desorbed from the adhering analyte. This contractor can choose such a material easily. Absorptivity materials, such as porous matrices, such as fleece, textiles or film, and sponge, are desirable. It is the fleece made from the fibroid material with which fiber is arranged disorderly, for example, paper fleece, and fiberglass fleece that it is most suitable especially. Moisture may be included although the sample extraction front face is dried preferably.

[0027] When examining the front face where the aluminum front face which electrolyzed is coarse, or other coarse surfaces of metal, the sample extraction front face made to become wet is used. The suitable liquids for making a sample front face become wet are mainly water and an aqueous buffer-solution system. These can be fitted to the immunoreaction performed to a degree. A detergent or an organic solvent can be added in water or an aqueous buffer-solution system. As a detergent component, by less than 5% of the weight of concentration, it is 0.01 to 1% of the weight of concentration preferably, and it is independent, or dipolar ion detergents, such as Tween 20, Tween 80, octyl glucoside, polidocanol, synperonic (synperonic), F68 [ for example, ], or KORAMIDO propanesulfonate (cholamidopropansulfonate), can be mixed and used. As a solvent, it is a form with pure dimethyl sulfoxide, glycerol, or ethanol, or can be used as mixture, for example. The amount of the solvent in a liquid is 30% intentionally. It can be the following. However, it is possible to use the organic solvent which does not contain water, or its mixture.

[0028] Making a sample extraction front face become wet is attained per cm<sup>2</sup> 1–50microl and by applying the liquid of 3–20microl/cm<sup>2</sup> using a pipet or automatic dosage equipment preferably. Or making it become wet can be attained also by contacting a sample front face on damp sponge or another moisture emission nature front face quickly.

[0029] It is advantageously solvable to make a sample front face become wet by approach in which a liquid is saved with a microencapsulation gestalt or a bubble (blister) pack gestalt on the component used for wiping off, and it deals. When water or an aqueous buffer-solution system is used as a liquid, capsulation into the Wacks Mr. matter, for example, paraffin, is advantageous. Emission of a liquid may take place by pushing against a mechanical means, for example, the front face which should be examined, etc.

[0030] It is the moldings of the front face with a sample extraction element it is desirable and even, and is fleece made from the fiber and/or polyester fiber especially based on a cellulose. Furthermore, fiber can be summarized with the organic binder which has the hydroxyl or an ester group preferably. Such fleece is the Germany patent application. It is described by DE-OS -3802366.

[0031] As a source of cellulose fiber, a viscose staple fiber, wood pulp, or a linter is used preferably. The vocabulary a "viscose staple fiber" puts the matter generated according to the following processes. That is, a cellulose is alkalized, an alkaline cellulose is formed, next, it processes with a carbon disulfide, a cellulose xanthate is formed, and it is dissolved in a sodium-hydroxide solution, and viscose filament GAN (garn) is spun. Wood pulp/cellulose can be obtained by all the chemical decomposition of a cellulose content ingredient, and bleaching following it. The vocabulary a "linter" puts the short cotton fiber originating in a cottonseed which cannot be spun. cellulose fiber -- desirable -- the fineness of the fiber of 1.7 – 4.5 dtex, and 1 – 20 mm -- desirable -- 3 – 12 mm It has die length. Especially desirable polyester fiber is abbreviation. It is fiber which has the specific gravity of 1.17 g/cm<sup>3</sup>, the die length of 3 – 6 mm, and the fineness of the fiber of 1.7 – 3.3 dtex.

[0032] Fleece can contain an organic binder and this contains OH and/or an ester group next. Polyvinyl alcohol or epichlorohydrin resin is preferably used for this purpose. Polyvinyl alcohol is die length 3 – 5 mm, and specific gravity 1.26 screw (bis) 1.30 g/cm<sup>3</sup>. It is preferably used as a fibroid material. Demineralization-izing / deionized water is completely poured on a slanting \*\*\*\*\* machine, and machine production of the fleece is carried out by these constituents and the conventional approach found out by paper manufacture. Especially the desirable fleece material is further described by DE-OS -3802366.

[0033] The thickness of the material which builds a sample extraction element was not decided clearly. The above-mentioned element must have a flat front face, when possible, in order to be advantageous. In this case, thickness is usually between 0.1 – 3 mm(s). The sample extraction front face must suit the magnitude of a chromatography test piece. That is, the width of face of a sample extraction front face must not far exceed the width of face of the above-mentioned test piece. the magnitude with a desirable sample extraction front face -- die length -- 0.3 – 2 cm -- especially -- desirable -- 0.5 – 0.8 cm and width of face -- 0.3 – 1 cm -- it is 0.4 – 0.8 cm especially preferably.

[0034] After wiping the front face polluted using the sample extraction element, between an eluate application

THIS PAGE BLANK (USF 12)



zone and a target zone, the sample extraction front face of an element is preferably forced on one field on the front face of a test piece lightly, and is contacted. This field exists between an eluate application zone and joint zones or in the joint zone itself preferably. Further especially a desirable thing is the material with which the zone which forces a sample extraction element was suitable for the sample extraction element, especially DE-OS - 3802366. It is the case of being made of the fleece material of a publication. It is especially most desirable to force a sample extraction element on a joint zone. Therefore, it is desirable also when a sample extraction element is the almost same, especially desirable surface area as the surface area of a joint zone between 25% - 150% of the front faces of a joint zone.

[0035] The pressure which forces a sample extraction element must be the magnitude in which the surface flow object contact between both front faces is possible at least.

[0036] In order to make the procedure to force into convenience more for a user, in one model, the trial carrier (5) is contained to casing (6 8) ( drawing 2 a : Drawing 2 b: casing without a cover, closed casing). Casing shows opening (9) for pressing out a sample extraction element (13). In order to open a carrier in order to wipe off, and to force a sample extraction element on opening (9) of test piece casing, the sample extraction element (13) attached in the carrier (11) is being fixed to the hinge of casing so that a carrier may be piled up with \*\*\*\*\*, and so that a lock may also be made. A sample extraction element can be contacted to a test piece also a hand or by using a clasp.

[0037] In the following process, an eluate is applied to an eluate application zone (1). A liquid can also be applied to an eluate application zone, or a test piece can also be immersed in a liquid. When applying a liquid, although this liquid moves to the end of the piece of a chromatography at least, especially an eluate application zone absorbs a complement, it consists of a material of absorptivity. When containing a trial carrier in casing, casing has opening for application of a liquid (7) preferably.

[0038] As a liquid, the buffer solution usually used for water and immunoassay is suitable. A liquid moves in the direction of a target zone (4) along with a test piece, and it passes through the zone where the sample extraction element is forced. The molecule of the analyte which has adhered to the sample extraction element at the surprising thing is incorporated by the liquid style, and is further carried to a back zone. The case where the zone on the test piece which forces a sample ("incorporation zone") is made of the fleece material desirable for a sample extraction element is desirable. Especially a desirable thing is the case where an incorporation zone ("incorporation fleece") consists of the joint zone (2) itself.

[0039] In desirable test deformation, while passing through a joint zone, an analyte molecule complex-izes by the labeling analyte joint partner, and the labeling partner who has not complex-ized is combined by the fixed analyte analog in a capture zone. On the other hand, the labeling joint partner who combined with the analyte passes through a capture zone, and arrives at a target zone. In a target zone, labeling complex is detectable. Since the signal of a target zone is better distinguished from the indicator of a capture zone optically, a capture zone can be covered preferably. When containing a trial carrier to casing, as for casing, it is desirable to have opening (10) on a target zone so that a color signal can be observed.

[0040] When a part of target field [ at least ] shows coloring, analysis has brought about the electropositive result and is directing contamination of the inspected front face. Coloring is easily detectable in photometry visually.

[0041] It is also possible to detect two or more analyte using test piece equipment. according to the joint zone, the capture zone, and the case, in relation to this, the chromatography-material (covering the die length from a joint zone to a target zone) is placed in parallel with the lengthwise direction of a test piece -- it can divide into the partial wafer according to individual preferably. And in each subsection of a joint zone, and each subsection of a capture zone, the joint partner to various analyte or different analyte analogs which should be detected contains. After contacting a sample extraction element in a common incorporation zone (it is before a joint zone and eluate application), it is divided into a different subchromatography path, different analyte in each partial target zone is detected, and it deals in the analyte liquid in various sub joint zones.

[0042] The susceptibility of the approach of this invention is so intentionally [ that it is surprised from the susceptibility of the approach described by the advanced technology ] high. The effectiveness which wipes the analyte of a sample extraction element and is moved to a test piece will be absolute magnitude 10 ng, if it is very large and this approach is used contrary to anticipation. The analyte of until, especially a drug are detectable. This approach has very few handling processes, and ends, and can measure a result with a simple means very quickly. Especially a surprising thing is the fact that the drug in body fluid, such as analyte which recognizes \*\*\*\* little existence especially sweat, or saliva, can be measured in the field of the body, and on a field. The inside of a handling process can determine whether the analyte was introduced into the inside of the body, if a test result is

THIS PAGE BLANK (CONT.)

obtained from the field of the body which cannot contact the analyte which should be measured by extracting a sample.

[0043]

[Example]

[Example 1]

a. Preparation 1 g of benzoyl ecgonine maleimide ECHIRUAMIDO N-hydroxysuccinimide and 1.8 g 2.4 g which dissolved dicyclohexylcarbodiimide in the anhydrous acetonitrile of 200 ml It added to benzoyl ecgonine hydrochloride, and stirred for 3 hours. Precipitate was filtered and removed, filtrate was evaporated, nitromethane was added, and then this was filtered again. After evaporating a solvent, trituration (trituration) was carried out using the ether. This produced the benzoyl ecgonine succinimidyl ester of 1.13 g. The product was added to the anhydrous acetonitrile of 100 ml with the 0.47g maleimide ethylamine hydrochloride (WO 90/15798 reference). It is 1.1 g to this. Triethylamine was added and the constituent was stirred at the room temperature for 12 hours. The reaction mixture was condensed by evaporation, and it took in the ethyl acetate of 50 ml, and shook 3 times with the sodium-hydrogencarbonate solution. The ethyl-acetate phase was condensed by evaporation and the product was changed into the hydrochloride by adding the dioxane of 10 ml saturated with HCl. Next, this is filtered, the ether washes and it is 1 g. The benzoyl ecgonine maleimide ECHIRUAMIDO hydrochloride was generated.

[0044] b. It was made to react with S-acetyl thio propionic-acid succinimidyl ester of 6 time molar quantity which dissolved the concentration 25 mg/ml rabbit IgG dissolved in preparation phosphate buffer solution pH 8 of the BIOCHINIRU-ized cocaine-poly hapten for capture zones in dimethyl sulfoxide. It is 1 at 25 degrees C. 1 mol/L after carrying out a time amount reaction The lysine solution was added and the reaction was stopped. Next, 1 mmol/L 0.1 mol/L containing EDTA It dialyzed by using the potassium phosphate buffer solution (pH 6) as outside liquid. Next, pH is adjusted to 7.8 and it is 1 mol/L. A hydroxylamine solution (pH 7.5) and 20 mmol/L It incubated at 25 degrees C for 1 hour. It added for the purpose of association, stirring the benzoyl ecgonine maleimide ECHIRUAMIDO hydrochloride with a superfluous 5 time mol which dissolved in dimethyl sulfoxide in the solution of the sulfhydryl group qualification rabbit IgG. 0.1 mol/L after incubating at 25 degrees C for 2 hours It is a cysteine solution 0.5 mol/L to 1 mmol/L The reaction was stopped by carrying out continuation addition of the iodoacetamide solution to 5 mmol/L. It is a reaction mixture 0.1 mol/L The potassium phosphate buffer solution (pH 8.5) was dialyzed as outside liquid, and protein concentration was set to 10 mg/ml by membrane filtration. Next, cocaine-poly hapten obtained using the BIOCHI nil caproic-acid succinimidyl ester with a superfluous 8 time mol which dissolved in dimethyl sulfoxide was BIOCHINIRU-ized. It is a reaction mixture 20 mmol/L Sodium acetate (pH 4.3) was dialyzed as outside liquid, and FPLC refined it.

[0045] c. By the same approach as preparation example 1a of a morphine-3-O-acetic-acid maleimide ethyl amide hydrochloride, the morphine-3-O-acetic acid was made to react with a maleimide ethylamine hydrochloride, and the morphine-3-O-acetic-acid maleimide ethyl amide hydrochloride was formed.

[0046] d. By the same approach as preparation example 1b of BIOCHINIRU-ized morphine-poly PAPUTEN, the rabbit IgG embellished with the sulfhydryl group was made to react with a morphine-3-O-acetic-acid maleimide ethyl amide hydrochloride and BIOCHI nil capric-acid succinimidyl ester, and BIOCHINIRU-ized morphine-poly PAPUTEN was formed.

[0047] e. The particle diameter measured by photon correlation spectroscopy generated the golden sol which is 20 nm using the preparation standard approach (Frens, Nature Physical Science, Vol.241, S.20-22, 1973) of the golden combination of the anti-cocaine antibody origin. Association with the antibody which recognizes cocaine and benzoyl ecgonine was carried out by the approach (Geoghegan et al., J.Immunol.Meth.Vol.34, S.11-31, 1980) described by the advanced technology.

[0048] f. The antibody which can recognize morphine and heroin was combined with the gold grain by the same approach as preparation example 1e of the golden combination of the anti-morphine antibody origin.

[0049] [Example 2]

a. Please refer to drawing 1 about construction of the trial carrier trial carrier for cocaine measurement.

[0050] Eluate application zone (absorptivity fleece) (1) Binzer (Hatzfeld, Federal Republic of Germany) The polyester fleece which came to hand was used. This is Kuralon 10%. It is pure polyester fleece made to use and \*\*-ize. This thickness is 1.0 to 1.2 mm, and has the absorbing power of 1800 ml/m2.

[0051] Kuralon of the 20 sections which consist of polyester of the joint zone (joint fleece) (2) 80 section, and viscose staple fibers of the 20 sections Thickness 0.32 mm, absorbing power which were made to \*\*-ize It was immersed in the following solution and then the fleece of 500 ml/m2 was dried. That is, it is the combination (this

THIS PAGE BLANK (USE)

combines also with benzyl ecgonine by the concentration which has the optical density of 10 by 520 nm) of the 100 mmol/L HEPES buffer solution, pH 7.5, 100 mol/L NaCl, a gold grain, and an anti-cocaine antibody.

[0052] Thickness 0.35 mm, absorbing power which were made to \*\*ize by 2% of Etadurin which consists of a linter capture zone (3) 100% It was immersed in the following solution and then the fleece of 372 ml/m<sup>2</sup> was dried. Namely, 10 mmol/L Sodium phosphate, pH 7.5, and 200 mg/L It is polymer-ized streptoavidin (prepared according to example 1c and EP A 0 331 127).

[0053] It was again immersed in the following solution and the fleece immersed beforehand was dried again. Namely, 10 mmol/L Sodium phosphate, pH 7.5, and 200 mg/L It is BIOCHINIRU-ized cocaine-poly hapten (it indicates to example 1b).

[0054] Thickness 0.35 mm, absorbing power which were made to \*\*ize by 2% of Etadurin which consists of a linter detection zone (target zone) (4) 100% The fleece of 372 ml/m<sup>2</sup> was used.

[0055] all fleece -- width of face 5 mm it was . Combination (conjugate) had the magnitude of 5 x 5 mm. As shown in drawing 1 , it is width of face about fleece. 5 mm The carrier foil (5) was pasted.

[0056] b. By the same approach as the trial carrier for heroin detection, the trial carrier for heroin detection was created from golden combination with an anti-heroin antibody, and BIOCHINIRU-ized morphine poly hapten.

[0057] [Example 3] Dilution heroin hydrochloride solution 10microl dissolved in the methanol It applied to the polyethylene front face and it was dried. This brought about the heroin hydrochloride contamination front face of 1 cm<sup>2</sup> polluted by 10, 20, 40, 60, and 80 ng, respectively. Three trial fields per amount of each were prepared. The thinness of fiber created [ the die length of fiber / the thinness of the polyester fiber 80 section which is 4 mm, and fiber ] the viscose staple fiber 20 section whose length of cut is 3 mm, and the fleece which the length of cut becomes from the vinylon 20 section of 4 mm by 1.7 dtex by 3.3 dtex. The polyester and rayon which have 0.3% of matter consistencies, and the fibroid matter of polyvinyl alcohol were stirred with the mixed bucket, or it dissociated. Next, this fibroid matter was moved to trommel with the pump. Fiber was turned to the screen side, while sampling moisture under the vacuum as fiber mixture was dehydrated or. And contact desiccation was carried out on the drying cylinder in the form of fleece where it has about 20% of dried food content. This is surface weight 80 g/m<sup>2</sup> and thickness 0.32 mm. Fleece was brought about.

[0058] What cut this fleece in the magnitude of 5 x 5 mm (2) was pasted up on the carrier (1). Using the sample extraction fleece attached on the carrier, the little pressure was applied and the trial field polluted with heroin was wiped.

[0059] You made it located on the combination fleece of the trial carrier which created the sample extraction fleece attached on the carrier according to example 2b, the light pressure was applied and forced, and it fixed by the peg (peg).

[0060] The eluate application zone was immersed in the chromatography buffer solution (150 mmol/L NaCl, 50 mmol/L potassium phosphate buffer solution, pH 7.2) for 5 seconds. Next, this has been arranged on the unabsorbent front face, the chromoscope (chromameter) of Minolta was used after 2 minutes, and color reinforcement (C value) was measured. Then, the detection field was inspected [ whether pink coloring exists and ] by the eye.

[0061]

[Table 1]

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

ヘロインの量/ 試験領域 (ng)	C 値	眼による検査 <sup>1</sup>
0	3.36	0
10	2.99	0
10	3.05	0
10	3.30	0
20	7.88	+
20	9.46	+
20	6.89	+/-
40	5.68	+/-
40	8.74	+
40	11.35	+
60	12.00	++
60	10.31	+
60	15.05	++
100	14.17	++
100	10.26	+
100	16.85	++

1 0 : Pink coloring is not seen in the detection fields.

+ /- : A thin color is detectable.

+ : A color is detectable.

+ + : A strong color is detectable.

[0062] [Example 4] The dilution water solution of cocaine was applied to the test area of a polyethylene film by the concentration of 5, 10, 25, 50, 75, and 100 ng like the example 3. The trial field was wiped like the example 3 using the equipment by drawing 2 which contains the trial carrier of a publication in example 2a for cocaine measurement. Sample extraction fleece was the round shape of diameter 4 mm. Pink coloring was inspected by the eye about each trial field.

[0063]

[Table 2]

コカインの量/ 試験領域 (ng)	眼による検査 <sup>2</sup>
0	0
5	+/-
10	+/-
25	+
50	++
75	++
100	++

2 0 : Pink coloring is not seen in the detection fields.

+ /- : Weak coloring is detectable.

+ : A color is detectable.

+ + : A strong color is detectable.

[0064] [Example 5] The cocaine of the one section was mixed with the lactose of the 1000 sections. The front face of the cotton cloth of 220 cm<sup>2</sup> was plastered with this mixture 5 mg. About 10 cm<sup>2</sup> of this field was wiped, and it was analyzed as describing in the example 4. In all trials, pink coloring was detected by the eye in the

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



detection fields. With the same approach, it is 2 cm<sup>2</sup>. The polyethylene film was made to pollute with a cocaine content particle, and this was wiped and analyzed. Similarly, in all trials, pink coloring was detected by the eye in the detection fields.

[0065] [an example 6] -- 10microl the coarse aluminum plate which electrolyzed the cocaine hydrochloride water solution diluted appropriately -- applying -- 1 cm<sup>2</sup> a field -- having extended . After making it dry for 15 minutes at 37 degrees C, the contamination front face was wiped by pushing lightly using the circular fleece of diameter 5 mm described in the example 3. Then, it wipes without giving moisture (dry), and picking is carried out, and it is 2microl about sample extraction fleece beforehand. It was made to become wet with water, and wiped, and picking was carried out. It has arranged on the joint zone of the trial carrier for cocaine detection which described sample extraction fleece in the example 3, respectively, and maintained at the condition using the pincette. The one half of the field of trial carrier absorptivity fleece was immersed in water for 10 seconds. Next, the trial carrier has been arranged on an unabsorbent front face, and the color in a detection field was measured after 2 minutes.

[0066]

[Table 3]

試験領域におけるコカイン 塩酸塩の絶対量 [ng]	ドライフリースを用いた拭い 取り後の眼による検査 <sup>3</sup>	湿ったフリースを用いた 拭い取り後の眼による検査
1000	++	++
600	++	++
300	+	++
200	+(弱い)	++
100	0	++
60	0	++
30	0	++
25	0	++
16	0	++
8	0	+
4	0	0

3 0 : Pink coloring is not seen in the detection fields.

+ : Pink coloring is seen in the detection fields.

++ : Coloring of pink strong against a detection field is seen.

[0067] [Example 7] The following things became clear while inspecting the human body front face. That is, using the trial carrier, while inspecting the front face of an axilla, the electropositive result was obtained from the Homo sapiens (proved by the electropositive view in urine) who drank opiate or cocaine. The location on a body front face eliminated possibility that the detected analyte polluted the front face of the body by contamination from the outside and of saying that it is a drug molecule. The detected drug molecule or its metabolite was deposited with the help of sweat. This means that those drugs were taken in.

[0068]

[Table 4]

発端者 No.	コカイン		阿片剤	
	本発明の方法 を用いた結果	尿における 所見	本発明の方法 を用いた結果	尿における 所見
1	-	-	+	+
2	+	+	+	+
3	-	-	+	+
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

[Translation done.]

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-62420

(43) 公開日 平成10年(1998) 3月6日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/543 33/53	5 2 1		G 0 1 N 33/543 33/53	5 2 1 G

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願平9-148309	(71) 出願人	594057093 ペーリンガー マンハイム ゲーエムペー ハー ドイツ連邦共和国 68305 マンハイム フルドホフ, サンドホファー シュトラ ーセ 112-132
(22) 出願日	平成9年(1997) 6月5日	(71) 出願人	597079175 セキュレテック ゲーエムペーハー ドイツ連邦共和国 ディー-85521 オッ トブルン, ローゼンヒマー ラントシュ トラーセ 129
(31) 優先権主張番号	1 9 6 2 2 5 0 3 : 5	(74) 代理人	弁理士 平木 祐輔 (外1名)
(32) 優先日	1996年6月5日		
(33) 優先権主張国	ドイツ (D E)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 表面上の分析物を検出する方法

(57) 【要約】

【解決手段】 本発明は、下記のものを含んでなるテストキットを用いて体液中の分析物を検出する方法であって、身体の一領域から取られる体液がサンプル採取エレメントによって採取され、そして検査されることを特徴とする前記方法。

a) 相互に流体接触している1または複数の毛管活性でクロマトグラフィー的に活性な平らな素材からなる試験片であって、下記のもの

— 一方の端に溶離液適用ゾーンおよび他方の端に標的ゾーン；溶離液適用ゾーンと標的ゾーンとの間に位置する捕獲ゾーン；および溶離液適用ゾーンと捕獲ゾーンの間に位置する結合ゾーン；

b) を含む試験片；サンプル採取エレメント；および

c) サンプル採取エレメントを溶離液適用ゾーンと結合ゾーンとの間で、または結合ゾーンで試験片の表面と接触させることを可能とする装置。

【効果】 この方法は薬物の検出に特に適している。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記のものを含んでなるテストキットを用いて体液中の分析物を検出する方法であって、身体の一領域から取られる体液がサンプル採取エレメントによって採取され、そしてその後検査されることを特徴とする前記方法。

a) 相互に流体接触(fluid contact)している1または複数の毛管活性でクロマトグラフィー的に活性な平らな素材からなる試験片であって、下記のものを含む該試験片:

— 一方の端に溶離液適用ゾーンおよび他方の端に標的ゾーン;

— 分析物、特異的分析物結合パートナーまたは標識化結合パートナーと特異的に結合することのできる捕獲試薬が固定されている、溶離液適用ゾーンと標的ゾーンの間に位置する捕獲ゾーン; および

— 分析物、特異的分析物結合パートナーまたは捕獲試薬と特異的に結合することのできる、移動可能な標識化結合パートナーを含有する、溶離液適用ゾーンと捕獲ゾーンとの間に位置する結合ゾーンであって、ここで該標識化結合パートナーの結合は捕獲ゾーンまたは標的ゾーンにおいて検出可能なシグナルを生成し、分析物の存在を指示する; 含む該試験片;

b) 試験片表面と離れているサンプル採取エレメント; および

c) サンプル採取エレメントを溶離液適用ゾーンと結合ゾーンの間で、または結合ゾーンで試験片の表面と接触させることを可能とする装置。

【請求項2】 サンプル採取エレメントを試験片の表面と接触させ、溶離液適用ゾーンに溶離液を適用してこれがサンプル採取エレメント接触部位を通過して標的ゾーン方向に移動し、分析物が溶離液によって取り込まれ(taken up)、標的ゾーンにおける分析物の存在が免疫学的結合反応に基づいて測定されることを特徴とする、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 検出すべき分析物が非合法な薬物またはその代謝生成物である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】 前期身体の一領域が皮膚または粘膜である、請求項1から3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】 体液が身体分泌物である、請求項1〜4のいずれかに記載の方法。

【請求項6】 身体分泌物が汗または唾液である、請求項5に記載の方法。

【請求項7】 サンプル採取エレメントの素材が接触圧力装置(contact pressure device)に堅固に結合している、請求項1に記載の方法。

【請求項8】 下記のものを含んでなるテストキットの体液中の分析物の測定のための使用であって、体液が身体の一領域から採取される前記使用。

a) 平らに成形した素材を有する、相互に流体接触して

いる1または複数の毛管活性で、クロマトグラフィー的に活性な試験片からなる試験片であって、下記のもの:

— 一方の端に溶離液適用ゾーンおよび他方の端に標的ゾーン;

— 分析物、特異的分析物結合パートナーまたは標識化結合パートナーと特異的に結合することのできる捕獲試薬が固定されている、溶離液適用ゾーンと標的ゾーンの間に位置する捕獲ゾーン; および

10 — 移動可能であり、かつ分析物、特異的分析物結合パートナーまたは捕獲試薬と特異的に結合することのできる標識化結合パートナーを含有する、溶離液適用ゾーンと捕獲ゾーンの間に位置する結合ゾーンであって、ここで該標識化結合パートナーの結合は捕獲ゾーンまたは標的ゾーンにおいて検出可能なシグナルを生成し、分析物の存在を指示する; 含む該試験片;

b) 試験片表面と離れているサンプル採取エレメント; および

20 c) サンプル採取エレメントを溶離液適用ゾーンと結合ゾーンとの間で、または結合ゾーンで試験片の表面と接触させることを可能とする装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、サンプル採取エレメントを用いて分析物を表面から取り除き、次に分析物をサンプル採取エレメントから溶出させ、そして免疫学的検出方法を用いて溶出液中の分析物を検出する、表面上の分析物の検出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】サンプル液中の分析物、例えば血液、尿および唾液等の検出とともに、犯罪学において重要性を増しているのは固体表面(例えば家具、旅行鞆等)上の分析物の検出である。特に麻薬捜査においては、単純な手段と迅速な方法によって表面の極く少量の薬物汚染を検出できることが望ましい。検出方法の感受性が高くなるほど、特定の表面を検出可能な程度に汚染する物質の量は少なくてすむ。

【0003】分析物、特に薬物について任意の与えられた表面を検査するため、種々の専門化した検出技術が知られている。これらの方法では、まず表面を拭って分析物を採取し、拭うのに用いたものから溶出させた後、分析物を免疫学的に測定する。Westinghouse社(Baltimore, USA)の"Illicit Substance Detector" (Security Management, Vol. 37/8, 12-15 頁, 1993)を用いた場合、節玉を取り除いた(burled)プラスチック表面を用いて検査すべき表面を拭い、そして3種類の試薬溶液を有する使い捨てカードに統合された方法を用いて薬物を測定する(DE-A-4341862)。試験結果は光学的走査計器を用いて評価される。検出の免疫学的原理は、測定すべき薬物によるラテックス凝集反応の阻害に基づいている。検出下限は1マイクログラムであるとされている。この極

めて高い分析検出限界に加えて、3つの液体リザーバーを機械的に押すことによって検出反応を開始させるという事実は不利である。さらに、試験結果の評価は光学的走査計器の助けをかりてのみ可能であり、肉眼だけでは評価できない。

【0004】Roche Diagnostics社は、同一の、取り扱いが困難な免疫学的試験原理に基づいた尿サンプル中のコカイン試験キットを製造している。感受性は約0.2  $\mu$ g/mlである。

【0005】Thermetics社(Woburn, USA)の"Accupress-Kit"(Security Management, Vol. 37/8, 12-15 頁, 1993)は、特殊に被覆された試薬キャリアーおよび試薬溶液を含有する3つの容器からなる。この試験においては、検査すべき表面を綿ウールの栓で拭い、この栓を緩衝液で洗浄する。1  $\mu$ g以上という比較的感受性の低い検出限界に加え、3つの異なる試薬溶液の取扱いは不便であり、また誤りが起こるもとを含んでいる。

【0006】EP-A-0 699 906には、分析物を表面から拭い、検出することのできるテストキットが記述されている。これらの表面は、取り扱い中に分析物によって汚染されたものである。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、単純な方法で技術的補助の使用なしに実施できる、表面の分析物による汚染、特に微量の薬物による汚染を検出する方法を提供することである。特に、分析物の検出限界は絶対量 (absolute terms) で1  $\mu$ gを有意に下回らなければならない。好ましくは100 ng未満でなければならない。

【0008】

【課題を解決するための手段】上記の課題は、添付の請求の範囲において特徴付けられる方法により解決される。

【0009】驚くべきことに、EP-A-0 699 906に記載のテストキットは、測定すべき物質との直接接合によって汚染されたのではない身体の諸領域の検査のためにも上首尾に採用できることが判明した。最も関連があるのは、汗、唾液、涙液、尿等の液体を分泌する身体の諸領域、または口、口部粘膜、舌、腋窩、目、生殖器領域等のそれらを担持する領域である。

【0010】本発明は、下記のものを含んでなるテストキットを用いて体液中の分析物を検出する方法であって、身体の一領域から取られる体液がサンプル採取エレメントによって採取され、そしてその後検査されることを特徴とする前記方法である。

a) 相互に流体接触している1または複数の毛管活性で、クロマトグラフィー的に活性で、表面様の平らな素材からなる試験片であって、下記のもの：

— 一方の端に溶離液適用ゾーンおよび他方の端に標的ゾーン；

— 分析物、特異的分析物結合パートナーまたは標識化結合パートナーと特異的に結合することのできる捕獲試薬が固定されている、溶離液適用ゾーンと標的ゾーンの間に位置する捕獲ゾーン；および

— 分析物、特異的分析物結合パートナーまたは捕獲試薬と特異的に結合することのできる、移動可能な標識化結合パートナーを含有する、溶離液適用ゾーンと捕獲ゾーンの間に位置する結合ゾーンであって、ここで該標識化結合パートナーの結合は捕獲ゾーンまたは標的ゾーンにおいて検出可能なシグナルを生成し、分析物の存在を指示する；含む該試験片；

b) 試験片表面と離れているサンプル採取エレメント；および

c) サンプル採取エレメントを溶離液適用ゾーンと結合ゾーンの間で、または結合ゾーンで試験片の表面と接触させる機能を有する装置。

【0011】この方法は、拭い取り用の素材によって組み立てられたサンプル採取エレメントを用いた身体表面からの分析物の拭い取り、分析物のサンプル採取エレメントからの溶出、および免疫学的検出反応を手段とした溶出液中の分析物の検出を包含し、以下の特徴を有する。すなわち、

a) 分析物を担持する試験対象の表面をサンプル採取エレメントで拭い、

b) 平らな表面を有するサンプル採取エレメントを、一方の端に溶離液適用ゾーンおよび他方の端に標的ゾーンを有する毛管活性でクロマトグラフィー的に活性な試験片に接触させ、接触部位は上記両ゾーンの間にあり、

c) 溶離液を溶離液適用ゾーンに適用し、溶離液は毛管作用によりサンプル採取エレメントの接触部位から標的ゾーンの方向に移動し、それによりサンプル採取エレメント上の分析物は溶離液に取り込まれ、そして

d) 免疫学的結合反応により標的ゾーンの分析物を測定する。

【0012】さらに、本発明の方法は、サンプル採取エレメントを身体の適切な領域に密接かつ強力に接触させることによるサンプル物質の（好ましくは口からの）抽出を含む。サンプル採取エレメントは、発端人 (proban) d) が例えば嘔むことによってサンプル液、特に唾液を充填するスポンジ様の物質であってよい。

【0013】本発明の方法の試験片は、1個のクロマトグラフィー的に活性な細片形態の素材から、または好ましくは並列に配置された同一の若しくは異なる素材から作られた、毛管活性な表面から主としてなる、基層上の数個の表面から組み立てることができる。上記数個の表面は、液体が毛管作用によって溶離液適用ゾーンから標的ゾーンへと流れる1つの液体輸送表面を形成するように、相互に流体接触している。

【0014】適切なクロマトグラフィー的素材は、セルロースおよびその誘導体、ファイバーガラスおよびフリ

ース(fleece)および合成または天然素材からの織物等すべて液体吸収性で、多孔性または毛管活性である。

【0015】本発明の方法においては、1または2以上の免疫学的結合反応により分析物を検出することが可能な種々の免疫学的試験手順を採用することができる。本発明の好ましい実施態様においては(図1)、本発明の目的に適し、かつキャリアーホイル(5)上に位置させることのできるクロマトグラフィー試験片が、溶離液適用ゾーン(1)と標的ゾーン(4)との間に捕獲ゾーン(3)を含んでいる。次に、この捕獲ゾーンは固定化形態の捕獲試薬を含有しており、分析物、分析物特異的結合パートナーまたは標識化結合パートナーと特異的に結合可能である。捕獲ゾーンの前に、試験片は分析物、捕獲試薬または分析物の特異的結合パートナーと捕獲ゾーンにおいて特異的に結合可能である移動可能な標識化結合パートナーを含有する結合ゾーン(2)を好ましくは有する。

【0016】「分析物の特異的結合パートナー」という用語は、移動可能な、捕獲試薬のための結合部位を有する分析物結合パートナーをいう。このような結合パートナーをイムノアッセイに用いる場合は、これを結合ゾーンの前または中、あるいは好ましくは結合ゾーンと捕獲ゾーンとの間に位置させることができる。さらに、標的ゾーンの後は、種々のゾーンを経て移動してきた液体を吸収する一層液体吸収性の高い素材を並列に配置することができる。

【0017】本発明の方法において適用するイムノアッセイの種類により、種々のゾーンに異なる結合パートナーを配置することができる。サンドイッチイムノアッセイにおいては、固定化されていない標識化分析物結合パートナーが結合ゾーンに配置される。これらは分析物と複合体を形成し、複合体はその分析物との結合により捕獲試薬によって結合されるか、または捕獲のための特異的結合部位を有する第2の、標識されていない、自由に移動できる分析物結合パートナーが先ず分析物とサンドイッチ複合体を形成し、この複合体が結合パートナーの特異的結合部位の助けにより捕獲ゾーンで結合される。上記の間に、捕獲ゾーンにおける複合体の標識が好ましくは測定される。この場合、捕獲ゾーンと標的ゾーンは同一である。

【0018】競合試験においては、標識化分析物類似体が好ましくは結合ゾーンに配置される。これは分析物の存在下で捕獲ゾーンにおいて捕獲試薬の結合部位を争うか(この場合、捕獲試薬は分析物結合パートナーである)、または、移動可能なさらなる分析物結合パートナーの存在下でその結合部位を争う。次に、標識化分析物類似体と移動可能な結合パートナーの複合体は特異的結合部位(例えばビオチン)により捕獲ゾーンにおいて結合される。この場合、捕獲試薬は移動可能な分析物結合パートナーの結合パートナー、例えばストレプトアビジン

ンである。好ましくは、この方法においては、標識は捕獲ゾーンでは起こらず、むしろ標的ゾーンにおいて分析物の存在の基準として非複合化分析物類似体の形で起こる。

【0019】好ましくは、本発明の方法はIEMA類似体試験原理〔免疫酵素測定法的類似体試験原理(immunoenzymometric analogue test principle)ともいう〕にしたがって実施される。試験片を用いたIEMA試験の実施は、例えばEP-A-0 407 904、EP-A-0 353 570またはDE OS 4024919に記述されている。

【0020】分析物の標識化結合パートナーは、結合ゾーンに過剰に存在する。クロマトグラフィー的移動の後、分析物に結合していない結合パートナーは捕獲ゾーンにおいて固相結合分析物類似体により固定化される。他方、分析物と標識化結合パートナーとの複合体は標的ゾーンにおいてさらにクロマトグラフィーにより分析される。標的ゾーンに進んだ標識は、分析物の存在または濃度の度合いとして測定することができる。

【0021】本発明における適切な分析物は、すべての免疫学的に検出可能な物質、特に抗原およびハプテンである。本発明は薬物、例えばコカイン、モルヒネ、ヘロイン等の検出に特に適している。この点で、分析物は拭うべき表面の上に分子として、または粒子形態で、または粒子に吸着されて存在しうる。

【0022】考えうる適切な標識は、酵素標識、蛍光標識および色素標識等の従来の標識である。直接標識が好ましく、特に好ましいのは金属標識で、最も好ましいのは金標識である。これは試験結果が直接肉眼で読み取れるという利点がある。

【0023】分析物の適切な結合パートナーは、特に抗体および抗体断片である。

【0024】捕獲試薬の他に移動可能な非標識化分析物結合パートナーを用いる場合は、これは捕獲試薬のための結合部位を有する。この結合部位に対して、結合対(binding pair)のすべての特異的結合パートナーが考えられる。例えば、レクチン、抗体、好ましくはビオチン(これはストレプトアビジンと結合する)である。捕獲ゾーンまたは標的ゾーンにおける標識化は、従来の検出方法によって例えば反射光測定的または可視的に起こりうる。特に金属標識(例えば金標識)を採用した場合、

測定結果を簡単な方法で眼で読むことができる。

【0025】本発明の方法は、試験すべき表面を拭うサンプル採取エレメントを用いて、そして好ましくは少量の圧力を適用して、実施される。ここでサンプル採取エレメントは拭い取りエレメントとして役立つ。他方、サンプル採取エレメントは自然に、または発端人(proband)の口中で噛んでいる間にサンプル液で充満するスポンジの形態であることができる。検査すべき身体領域は通常水を含んでいる。これはサンプル採取手順を数回繰り返す場合に有利である。より良い取り扱いのため、サン

ブル採取エレメント(13)は好ましくは支持体(11)上に固定される(図3)。良好な拭き取り性能の成果は、特にサンプル採取エレメントが機械的応力に耐性の場合に達成される。サンプル採取エレメントの組み立て素材が超音波的に支持体(11)に溶接されている場合に特に有利であることが実証された。

【0026】サンプル採取エレメントを構築する素材は、分析物、特に薬物が付着することができ、拭うことにより濃縮されうる、プラスチック、織物、フリース等の素材であってよい。他方、付着している分析物は、液体と接触した時に容易に脱離可能でなければならない。当業者は容易にこのような素材を選択することができる。フリース、織物または膜、スポンジ等の多孔性マトリックスなどの吸収性素材が好ましい。特に最も適しているのは、繊維が無秩序に配置されている、繊維性素材から作られたフリース、例えば紙フリースまたはファイバークラスフリースである。サンプル採取表面は好ましくは乾燥しているが、湿気を含んでいてもよい。

【0027】電解を施したアルミニウム表面等の粗い表面、または他の粗い金属表面を試験する場合は、湿らせたサンプル採取表面が使用される。サンプル表面を湿らせるための適切な液体は、主として水および水性緩衝液系である。これらは次に行なう免疫反応に適合させることができる。水または水性緩衝液系に洗剤または有機溶剤を添加することができる。洗剤成分として、Tween 20、Tween 80、オクチルグルコシド、ポリドカノール、シンベロニック(synperonic)、例えばF68、またはコラミドプロパンスルホネート(cholamidopropansulfonate)等の両性イオン洗剤を5重量%未満の濃度で、好ましくは0.01重量%から1重量%の濃度で、単独でまたは混合して用いることができる。溶媒としては、例えばジメチルスルホキシド、グリセリン、またはエタノールが純粋な形で、または混合物として使用できる。液体中の溶媒の量は、有意に30%未満であることができる。しかし、水を含まない有機溶媒またはその混合物を使用することが可能である。

【0028】サンプル採取表面を湿らせることは、 $\text{cm}^2$ あたり1~50 $\mu\text{l}$ 、好ましくは3~20 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ の液体を例えばピペットまたは自動用量装置を用いて適用することにより達成される。または、湿らせることは、サンプル表面を湿ったスポンジまたは別の湿気放出性表面と素早く接触させることによっても達成できる。

【0029】サンプル表面を湿らせることは、拭き取りに使用する成分上にマイクロカプセル化形態または泡(blisters)バック形態で液体が保存されうるような方法で有利に解決することができる。もし液体として水または水性緩衝液系が用いられる場合は、ワックス様物質、例えばパラフィン内へのカプセル化が有利である。液体の放出は機械的手段、例えば試験すべき表面に押しつける、等により起こりうる。

【0030】好ましくは、サンプル採取エレメントは平らな表面様の成形物で、特にセルロースに基づく繊維および/またはポリエステル繊維で作られたフリースである。さらに、好ましくはヒドロキシルまたはエステル基を有する有機結合剤によって繊維をまとめることができる。このようなフリースはドイツ国特許出願 DE-OS-3802366に記述されている。

【0031】セルロース繊維の源としては、好ましくはビスコースステープルファイバー、木材パルプまたはリントナーが用いられる。「ビスコースステープルファイバー」という用語は以下の工程によって生成する物質をさす。すなわち、セルロースをアルカリ化してアルカリ性セルロースを形成し、次に二硫化炭素で処理してキシラントゲン酸セルロースを形成し、それを水酸化ナトリウム溶液に溶解し、そしてビスコースフィラメントガーン(garn)を紡績する。木材パルプ/セルロースはセルロース含有材料の全化学分解、およびそれに続く漂白により得ることができる。「リントナー」という用語は、綿実由来する短い、紡ぐことのできない綿繊維をさす。セルロース繊維は好ましくは1.7~4.5 dtexの繊維の細かさ、および1~20 mm、好ましくは3~12 mmの長さを有する。特に好ましいポリエステル繊維は、約1.17 g/cm<sup>3</sup>の比重、3~6 mmの長さ、および1.7~3.3 dtexの繊維の細かさを有する繊維である。

【0032】フリースは有機結合剤を含有することができ、これは次にOHおよび/またはエステル基を含む。この目的のため、好ましくはポリビニルアルコールまたはエビクロロヒドリン樹脂が用いられる。ポリビニルアルコールは長さ3~5 mm、比重1.26ビス(bis) 1.30 g/cm<sup>3</sup>の繊維性素材として好ましく用いられる。これらの構成成分および完全に脱塩化/脱イオン化した水を斜めの抄き網機械にかけ、製紙に見いだされる従来の方法によりフリースを機械生産する。特に好ましいフリース素材はDE-OS-3802366にさらに記述されている。

【0033】サンプル採取エレメントを構築する素材の厚さは、はっきり決まてはいない。上記エレメントは有利であるためには可能な場合、平坦な表面を持たなければならない。この場合厚さは通常0.1~3 mmの間である。サンプル採取表面はクロマトグラフィー試験片の大きさに合っていないなければならない。すなわち、サンプル採取表面の幅は、上記試験片の幅を大きく上回ってはならない。サンプル採取表面の好ましい大きさは、長さが0.3~2 cm、特に好ましくは0.5~0.8 cmおよび幅が0.3~1 cm、特に好ましくは0.4~0.8 cmである。

【0034】サンプル採取エレメントを用いて汚染された表面を拭った後、エレメントのサンプル採取表面を溶離液適用ゾーンと標的ゾーンとの間で試験片表面の一領域に好ましくは軽く押しつけて接触させる。この領域は、好ましくは溶離液適用ゾーンと結合ゾーンとの間に、または結合ゾーンそのものに存在する。さらに特に

好ましいのは、サンプル採取エレメントを押しつけるゾーンがサンプル採取エレメントに適した素材、特にDE-O S-3802366 に記載のフリース素材でできている場合である。サンプル採取エレメントを結合ゾーンに押しつけるのが特に最も好ましい。したがって、サンプル採取エレメントが結合ゾーンの表面の25%~150%の間にある、特に好ましくは結合ゾーンの表面積とほぼ同じ表面積である場合もまた好ましい。

【0035】サンプル採取エレメントを押しつける圧力は、少なくとも両表面の間の表面流体接触が可能である大きさでなければならない。

【0036】押しつける手順を使用者にとってより便利にするために、1つのモデルにおいては試験キャリアー(5)をケーシング(6、8)に収納している(図2a:ふたなしのケーシング、図2b:閉じたケーシング)。ケーシングはサンプル採取エレメント(13)を絞り出すための開口部(9)を示している。キャリアー(11)に取り付けたサンプル採取エレメント(13)は、拭い取りのためにはキャリアーを開き、サンプル採取エレメントを試験片ケーシングの開口部(9)に押しつけるためにはキャリアーをばたんと重ねるように、そしてロックもできるように、ケーシングの蝶番に固定されている。サンプル採取エレメントは手によって、または留め金を用いることによっても、試験片と接触させることができる。

【0037】次の工程において、溶離液を溶離液適用ゾーン(1)に適用する。液体を溶離液適用ゾーンに適用することもできるし、または試験片を液体に浸漬することもできる。液体を適用する場合、溶離液適用ゾーンは少なくともこの液体がクロマトグラフィーの末端まで移動するのに必要な量を吸収する特に吸収性の素材からなる。試験キャリアーをケーシング内に収納する場合、ケーシングは好ましくは液体の適用のための開口部(7)を有する。

【0038】液体としては、水およびイムノアッセイに通常使用する緩衝液が適切である。液体は試験片に沿って標的ゾーン(4)の方向へ移動し、サンプル採取エレメントが押しつけられているゾーンを通過する。驚くべきことに、サンプル採取エレメントに付着している分析物の分子は、液体流によって取り込まれ、さらに後ろのゾーンへ運ばれる。サンプルを押しつける試験片上のゾーン(「取り込みゾーン」)がサンプル採取エレメントにとって好ましいフリース素材でできている場合が好ましい。特に好ましいのは、取り込みゾーン(「取り込みフリース」)が結合ゾーン(2)自体からなる場合である。

【0039】好ましい試験変形においては、結合ゾーンを通過する間に分析物分子が標識化分析物結合パートナーによって複合体化し、そして複合体化していない標識化パートナーは捕獲ゾーンで固定化分析物類似体により

結合される。他方、分析物と結合した標識化結合パートナーは捕獲ゾーンを通過し、標的ゾーンに到達する。標的ゾーンにおいて、標識化複合体が検出できる。標的ゾーンのシグナルを捕獲ゾーンの標識からより良く光学的に区別するため、捕獲ゾーンを好ましくはカバーすることができる。試験キャリアーをケーシングに収納する場合は、色シグナルが観察できるように、ケーシングは標的ゾーンの上に開口部(10)をもつことが好ましい。

【0040】標的領域の少なくとも一部が発色を示すとき、分析は陽性結果をもたらしており、検査した表面の汚染を指示している。発色は視覚的に、または測光的に容易に検出できる。

【0041】試験片装置を用いて2つ以上の分析物を検出することも可能である。これに関連して、結合ゾーンおよび捕獲ゾーン、および場合によるとクロマトグラフィーの素材(結合ゾーンから標的ゾーンまでの長さにわたって)を、試験片の縦方向に平行に置かれている、好ましくは個別的部分的小片に分割することができる。そして、結合ゾーンの個々のサブセクションおよび捕獲ゾーンの個々のサブセクションには、検出すべき種々の分析物または異なる分析物類似体に対する結合パートナーが含有されている。サンプル採取エレメントを共通取り込みゾーン(結合ゾーンおよび溶離液適用の前にある)に接触させた後、種々のサブ結合ゾーン内の分析物液は異なるサブクロマトグラフィー通路に分かれ、そして各部分的標的ゾーンにおいて異なる分析物が検出される。

【0042】本発明の方法の感受性は、先行技術に記述されている方法の感受性よりも驚くほど有意に高い。サンプル採取エレメントの分析物を拭って試験片に移す効率は、予想に反して非常に大きく、この方法を用いるなら絶対量10 ng までの分析物、特に薬物を検出することができる。この方法は取り扱い工程の数が非常に少なく、また結果は非常に迅速に、かつ単純な手段で測定できる。特に驚くべきことは、身体領域内または領域上に極く少量存在する分析物、特に汗または唾液等の体液中の薬物を測定することができるという事実である。取り扱い工程中は測定すべき分析物と接触しえない身体領域からサンプルを採取することにより、試験結果が得られたならば分析物が体内に導入されたか否かを決定することができる。

【0043】

【実施例】

【実施例1】

a. ベンゾイルエクゴニンマレイミドエチルアミドの調製

1 g のN-ヒドロキシスクシンイミドおよび1.8 g のジシクロヘキシルカルボジイミドを200 mlの無水アセトニトリルに溶解した2.4 g のベンゾイルエクゴニンハイドロクロリドに添加し、3時間攪拌した。沈殿物を濾過して



除去し、濾液を蒸発させ、ニトロメタンを添加し、次にこれを再度濾過した。溶媒を蒸発させた後、エーテルを用いてトリチュレーション (trituration) を実施した。これは1.13 gのベンゾイルエクゴニンスクシンイミジルエステルを生じた。生成物を0.47gのマレイミドエチルアミン塩酸塩(WO 90/15798参照) と共に100 mlの無水アセトニトリルに添加した。これに1.1 gのトリエチルアミンを添加し、組成物を室温で12時間攪拌した。反応混合物を蒸発により濃縮し、50 mlの酢酸エチル中に取り、炭酸水素ナトリウム溶液と共に3回振とうした。酢酸エチル相を蒸発により濃縮し、HClで飽和させた10 mlのジオキサンを加えることにより生成物を塩酸塩に変換した。次にこれを濾過し、エーテルで洗浄して1 gのベンゾイルエクゴニンマレイミドエチルアミド塩酸塩を生成した。

【0044】b. 捕獲ゾーン用のビオチニル化コカイン-ポリハブテンの調製

リン酸緩衝液pH 8に溶解した濃度25 mg/mlのウサギ IgGを、ジメチルスルホキシドに溶解した6倍モル量のS-アセチルチオプロピオン酸スクシンイミジルエステルと反応させた。25°Cで1時間反応させた後、1 mol/Lのリシン溶液を添加して反応を停止させた。次に、1 mmol/LのEDTAを含有する0.1 mol/Lのリン酸カリウム緩衝液(pH 6)を外液として透析を実施した。次にpHを7.8に調整し、1 mol/Lのヒドロキシルアミン溶液(pH 7.5)、20 mmol/Lと共に1時間25°Cでインキュベートした。結合の目的のため、ジメチルスルホキシドに溶解した5倍モル過剰のベンゾイルエクゴニンマレイミドエチルアミド塩酸塩をスルフヒドリル基修飾ウサギ IgGの溶液に攪拌しながら添加した。25°Cで2時間インキュベートした後、0.1 mol/Lのシステイン溶液を1 mmol/Lまで、および0.5 mol/Lのヨードアセトアミド溶液を5 mmol/Lまで連続添加することにより反応を停止させた。反応混合物を0.1 mol/Lのリン酸カリウム緩衝液(pH 8.5)を外液として透析し、膜濾過によりタンパク質濃度を10 mg/mlとした。次に、ジメチルスルホキシドに溶解した8倍モル過剰のビオチニルカブロン酸スクシンイミジルエステルを用いて、得られたコカイン-ポリハブテンをビオチニル化した。反応混合物を20 mmol/Lの酢酸ナトリウム(pH 4.3)を外液として透析し、FPLCにより精製した。

【0045】c. モルヒネ-3-O-酢酸マレイミドエチルアミド塩酸塩の調製

実施例1aと同様の方法で、モルヒネ-3-O-酢酸をマレイミドエチルアミン塩酸塩と反応させ、モルヒネ-3-O-酢酸マレイミドエチルアミド塩酸塩を形成した。

【0046】d. ビオチニル化モルヒネ-ポリハブテンの調製

実施例1bと同様の方法で、スルフヒドリル基で修飾したウサギ IgGをモルヒネ-3-O-酢酸マレイミドエ

チルアミド塩酸塩およびビオチニルカブロン酸スクシンイミジルエステルと反応させ、ビオチニル化モルヒネ-ポリハブテンを形成した。

【0047】e. 抗コカイン抗体由来の金結合体の調製標準的方法(Frens, Nature Physical Science, Vol. 241, S. 20-22, 1973)を用いて、光子相関分光法により測定した粒子径が20 nmである金ゾルを生成した。コカインおよびベンゾイルエクゴニンを認識する抗体との結合は、先行技術に記述されている方法(Geogheganら, J. Immunol. Meth. Vol. 34, S.11-31, 1980)によって実施した。

【0048】f. 抗モルヒネ抗体由来の金結合体の調製実施例1eと同様の方法で、モルヒネおよびヘロインを認識することのできる抗体を金粒子に結合させた。

【0049】〔実施例2〕

a. コカイン測定のための試験キャリアー

試験キャリアーの構築については、図1を参照されたい。

【0050】溶離液適用ゾーン(吸収性フリース)

(1)

Binzer社(Hatzfeld, Federal Republic of Germany)より入手したポリエステルフリースを用いた。これは、10% Kuralonを用いて剛化させた純粋なポリエステルフリースである。この厚さは1.0から1.2 mmで、1800 ml/m<sup>2</sup>の吸収能を有する。

【0051】結合ゾーン(結合フリース) (2)

80部のポリエステルおよび20部のビスコースステープルファイバーからなる、20部のKuralonにより剛化させた、厚さ0.32 mm、吸収能 500 ml/m<sup>2</sup>のフリースを下記の溶液に浸漬し、次に乾燥させた。すなわち、100 mmol/L HEPES緩衝液、pH 7.5、100 mmol/L NaCl、金粒子と抗コカイン抗体の結合体(これは520 nmで10%の光学濃度を有する濃度でベンジルクゴニンとも結合する)である。

【0052】捕獲ゾーン(3)

100%リンターからなる、2%のEtadurinにより剛化させた、厚さ0.35 mm、吸収能 372 ml/m<sup>2</sup>のフリースを下記の溶液に浸漬し、次に乾燥させた。すなわち、10 mmol/L リン酸ナトリウム、pH 7.5、200 mg/L ポリマー化ストレプトアビジン(実施例1c、EP A 0 331 127にしたがって調製された)である。

【0053】前もって浸漬したフリースを再度下記の溶液に浸漬し、再度乾燥させた。すなわち、10 mmol/L リン酸ナトリウム、pH 7.5、200 mg/L ビオチニル化コカイン-ポリハブテン(実施例1bに記載)である。

【0054】検出ゾーン(標的ゾーン) (4)

100%リンターからなる、2%のEtadurinにより剛化させた、厚さ0.35 mm、吸収能 372 ml/m<sup>2</sup>のフリースを用いた。

【0055】すべてのフリースは幅 5 mm であった。結

合体(conjugate)は5 x 5 mmの大きさを有した。図1に示すように、フリースを幅5 mmのキャリアーホイール(5)に接着した。

【0056】b. ヘロイン検出のための試験キャリアー同様の方法で、抗ヘロイン抗体との金結合体およびビオチニル化モルヒネポリハブテンからヘロイン検出用の試験キャリアーを作成した。

【0057】〔実施例3〕メタノールに溶解した希釈ヘロイン塩酸塩溶液10 $\mu$ lをポリエチレン表面に適用し、乾燥させた。これは、それぞれ10、20、40、60および80 ngによって汚染された、1 cm<sup>2</sup>のヘロイン塩酸塩汚染表面をもたらしした。各量につき3つの試験野を準備した。繊維の細さが3.3 dtexで繊維の長さが4 mmであるポリエステル繊維80部、繊維の細さが1.7 dtexで切断長さが3 mmであるビスコースステープルファイバー20部、および切断長さが4 mmのポリビニルアルコール繊維20部よりなるフリースを作成した。物質密度0.3%を有する、ポリエステル、レーヨンおよびポリビニルアルコールの繊維性物質を混合おけでかき回すか、または分離した。次にこの繊維性物質を回転篩にポンプで移した。繊維混合物が20脱水されるにつれ、または真空下で水分を抜き取るうち\*

\*に、繊維は篩側に向けられた。そして、約20%の乾物含有量を有するフリースの形で乾燥シリンダー上で接触乾燥させた。これは表面重量80 g/m<sup>2</sup>および厚さ0.32 mmのフリースをもたらしした。

【0058】このフリースを5 x 5 mmの大きさに切ったもの(2)をキャリアー(1)に接着した。キャリアー上に取り付けしたサンプル採取フリースを用いて、少量の圧力を加えて、ヘロインで汚染された試験野を拭った。

【0059】キャリアー上に取り付けしたサンプル採取フリースを、実施例2 bにしたがって作成した試験キャリアーの結合体フリースの上に位置させ、軽い圧力を加えて押しつけ、ペグ(peq)で固定した。

【0060】溶離液適用ゾーンを5秒間クロマトグラフィー緩衝液(150 mmol/L NaCl, 50 mmol/L リン酸カリウム緩衝液、pH 7.2)に浸漬した。次に、これを非吸収性表面に配置し、2分後にMinoIta社の色度計(chromameter)を用いて色強度(C値)を測定した。その後、ピンク色の発色が存在するかどうか検出野を眼で検査した。

【0061】

【表1】

ヘロインの量/ 試験領域 [ng]	C 値	眼による検査 <sup>1</sup>
0	3.36	0
10	2.99	0
10	3.05	0
10	3.30	0
20	7.88	+
20	9.46	+
20	6.89	+/-
40	5.68	+/-
40	8.74	+
40	11.35	+
60	12.00	++
60	10.31	+
60	15.05	++
100	14.17	++
100	10.26	+
100	16.85	++

<sup>1</sup> 0: 検出野にピンク色の発色が見られない。

+/-: 薄い色が検出可能。

+: 色が検出可能。

++: 強い色が検出可能。

【0062】〔実施例4〕実施例3と同様に、コカインの希釈水溶液をポリエチレンフィルムの試験領域に5、10、25、50、75および100 ngの濃度で適用した。実施例

3と同様に、コカイン測定のための実施例2aに記載の試験キャリアーを含む図2による装置を用いて、試験野を拭った。サンプル採取フリースは直径4 mmの円形であった。各試験野についてピンク色の発色を眼で検査した。

【0063】

【表2】

コカインの量/ 試験領域 (ng)	眼による検査 <sup>2</sup>
0	0
5	+/-
10	+/-
25	+
50	++
75	++
100	++

<sup>2</sup> 0 : 検出野にピンク色の発色が見られない。

+/-: 弱い発色が検出可能。

+: 色が検出可能。

++: 強い色が検出可能。

【0064】〔実施例5〕1部のコカインを1000部のラクトースと混合した。この混合物5mgを220cm<sup>2</sup>の木綿布の表面に塗り付けた。この領域の約10cm<sup>2</sup>を拭い、実施例4に記述するように分析した。すべての試験において、検出野にピンク色の発色が眼で検出された。同様の\*20

\*方法で、2cm<sup>2</sup>のポリエチレンフィルムをコカイン含有粒子で汚染させ、これを拭って分析した。同様に、すべての試験において検出野にピンク色の発色が眼で検出された。

【0065】〔実施例6〕10μlの適切に希釈したコカイン塩酸塩水溶液を電解を施した粗いアルミニウムプレートに適用し、1cm<sup>2</sup>の領域の広げた。37°Cで15分間乾燥させた後、実施例3に記述した直径5mmの円形フリースを用いて、軽く押しつけることにより汚染表面を拭った。その時、湿気を与えずに（ドライで）拭い取りを実施し、また、あらかじめサンプル採取フリースを2μlの水で湿らせておいてぬぐい取りを実施した。サンプル採取フリースをそれぞれ実施例3に記述したコカイン検出用の試験キャリアーの結合ゾーン上に配置し、ピンセットを用いてその状態に保った。試験キャリアー吸収性フリースの領域の半分を10秒間水に浸漬した。次に、試験キャリアーを非吸収性表面上に配置し、2分後に検出野における色を測定した。

【0066】

【表3】

試験領域に於けるコカイン塩酸塩の絶対量 [ng]	ドライフリースを用いて拭い取り後の眼による検査 <sup>3</sup>	湿ったフリースを用いて拭い取り後の眼による検査
1000	++	++
600	++	++
300	+	++
200	+(弱い)	++
100	0	++
60	0	++
30	0	++
25	0	++
16	0	++
8	0	+
4	0	0

<sup>3</sup> 0 : 検出野にピンク色の発色が見られない。

+: 検出野にピンク色の発色が見られる。

++: 検出野に強いピンク色の発色が見られる。

【0067】〔実施例7〕ヒトの身体表面を検査するうちに、以下のことが明らかになった。すなわち、試験キャリアーを用いて腋窩の表面を検査中に、阿片剤またはコカインを飲んだ（尿における陽性所見により証明された）ヒトから陽性結果が得られた。身体表面上の位置 ※

※が、検出された分析物が外部からの汚染により身体表面を汚染した薬物分子であるという可能性を排除した。

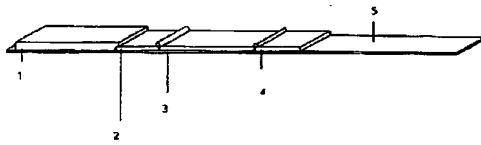
検出された薬物分子またはその代謝生成物は汗の助けにより堆積していた。これは、それらの薬剤が摂取されたことを意味する。

【0068】

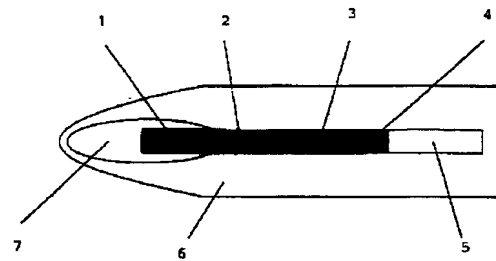
【表4】

発端者No.	コカイン		阿片剤	
	本発明の方法を用いた結果	尿における所見	本発明の方法を用いた結果	尿における所見
1	-	-	+	+
2	+	+	+	+
3	-	-	+	+
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

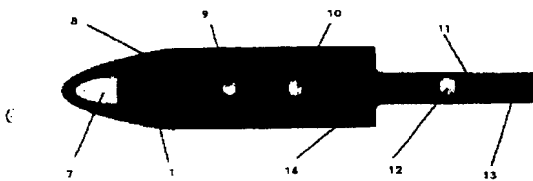
【図1】



【図2】



【図3】



【図4】



## 【手続補正書】

【提出日】平成9年9月12日

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図面の簡単な説明

【補正方法】追加

## 【補正内容】

## 【図面の簡単な説明】

【図1】クロマトグラフィー試験片を示す図である。

【図2】ふたなしのケーシングを示す図である。

【図3】閉じたケーシングを示す図である。

【図4】サンプル採取エレメントを示す図である。

## 【符号の説明】

\* 1 溶離液適用ゾーン

2 結合ゾーン

3 捕獲ゾーン

4 標的ゾーン

5 試験キャリアー

6 ケーシング

7 開口部

8 ケーシング

9 開口部

10 開口部

11 キャリアー

\* 13 サンプル採取エレメント

フロントページの続き

(72)発明者 ホルガー ドロステ  
ドイツ連邦共和国 ディー-69214 エッ  
ベルハイム ヴァッセルトゥルムシュトラ  
ーセ 56

(72)発明者 サンドラ リンケ  
ドイツ連邦共和国 ディー-68165 マン  
ハイム モールシュトラーセ 17

(72)発明者 フランツ アパール  
ドイツ連邦共和国 ディー-85402 クラ  
ンツベルグ、アム アンガー 3

(72)発明者 ヨハネス ボーネンベルガー  
ドイツ連邦共和国 ディー-80637 ミュ  
ンヘン ハイデックシュトラーセ 14

(72)発明者 ハンス ザックス  
ドイツ連邦共和国 ディー-89134 ブラ  
ウシュタイム アントラウヴェーク 10